Ciencia, Docencia y Tecnología Suplemento
Vol. 1 | Nº 1 (2011) | ISSN (en línea) 0327-5566

Estimación de la mineralización y fijación biológica del nitrógeno en suelos inundados para optimizar su utilización en cultivo de arroz y minimizar el daño ambiental

PID 2091

Silvia Benintende*; María Benintende**; Juan De Battista***; Mariano Saluzzio**; Cecilia Sánchez*; María Sterren*; Norma Arias***; José Oszust; Gabriela Pretto; Nelson Faccendini

Autores: * Cátedra *Microbiología Agrícola* Facultad de Ciencias Agropecuarias UNER
** Cátedra *Tecnología de Tierras* Facultad de Ciencias Agropecuarias UNER
*** Estación Experimental *Concepción del Uruguay* INTA –
E-mail: silviab@fca.uner.edu.ar

Resumen
El objetivo fue determinar los factores de mayor incidencia en la dinámica de nitrógeno en arroceras para estimar la mineralización en suelos inundados, para optimizar su utilización en el cultivo de arroz y minimizar el daño ambiental. Se realizaron estudios orientados a esclarecer la dinámica de los procesos mineralización de N mediante la aplicación de la metodología propuesta por Raison *et al* 1987 y de la absorción del N inorgánico por el cultivo de arroz mediante muestreos periódicos del cultivo. Se estableció el efecto de la historia cultural del lote sobre las variables relacionadas con la capacidad de aporte de N del suelo a través de la mineralización de N orgánico y sobre la dinámica de la comunidad de cianobacterias. Se estudió la relación entre las variables climáticas variables edáficas y las variables de cultivo. Mediante análisis estadísticos se elaboraron modelos de asociación entre las variables N absorbido por el cultivo; biomasa acumulada y rendimiento con el potencial de mineralización de N (PMN-IA), obtenido con incubaciones anaeróbicas de 7 días. Estos modelos permiten estimar rendimiento del cultivo a partir de la capacidad de aporte de N del suelo; y ajustar la dosis de requerimiento de fertilización nitrogenada para rendimientos superiores.

Palabras clave: arroz, nitrógeno, mineralización, fijación biológica de nitrógeno

Introducción

A partir de las hipótesis que la mineralización potencial del nitrógeno del suelo en condiciones de inundación puede ser estimada a través de incubaciones anaeróbicas y otras técnicas alternativas, y que ésta puede ser utilizada en modelos que vinculan esta capacidad potencial con lo que efectivamente ocurre a campo, principalmente en función de las temperaturas y otros factores que también pueden afectar este aporte al cultivo, y que las rotaciones usadas en la zona arrocera de la Provincia de Entre Ríos afectan de distinta manera la persistencia de las cianófitas en los lotes, pudiendo algunas de ellas adaptarse mejor al sistema de cultivo y rotaciones empleados, se formuló el objetivo general del Proyecto: determinar los factores de mayor incidencia en la dinámica de nitrógeno en arroceras para estimar la mineralización en suelos inundados, para optimizar su utilización en el cultivo de arroz y minimizar el daño ambiental. Para ello se trabajó con estimaciones de aportes de N del suelo por mineralización y valoraciones de microorganismos fijadores de N_2 en sistemas arroceros de la provincia de Entre Ríos, para contribuir al conocimiento de la dinámica del N, de forma que puedan utilizarse en el método del balance para diagnóstico de la fertilización nitrogenada de este cultivo.

Actividades realizadas y resultados obtenidos

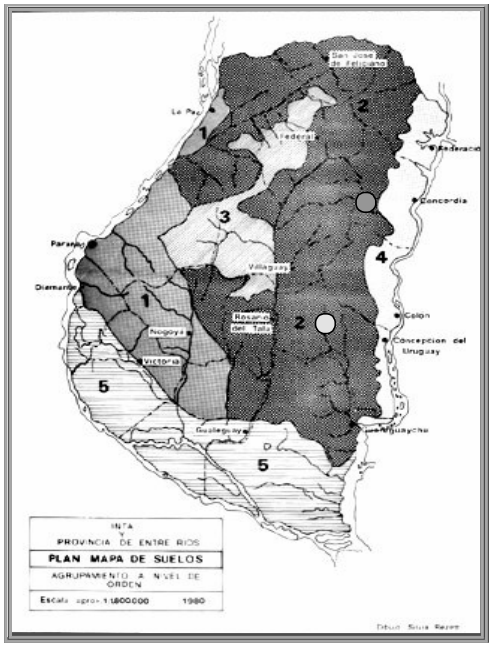
Ciencia, Docencia y Tecnología Suplemento
Vol. 1 | Nº 1 (2011) | ISSN (en línea) 0327-5566

Entre los años 2003 y 2006 se realizaron muestreos de lotes en campos de productores, en áreas homogéneas en cuanto a: suelo, fuente de agua para riego, variedad de arroz sembrada, densidad de plantas y estado sanitario del cultivo. Los lotes diferían entre sí en suelo y cultivo antecesor.

De esta forma quedaron definidos los sitios con secuencia arroz – soja **(AS)**; arroz – soja - maíz – soja **(ASMS)**; arroz – arroz **(AA)** y arroz – pastura **(AP)**. En otro caso a las muestras se las denominó

según la ubicación del sitio de muestreo y la posición respecto del pozo, que incide en la temperatura del agua de riego; quedando definidas de la siguiente forma: San Salvador – Alto **(SS A)**; San Salvador – Bajo **(SS B)**; Villa Mantero – Alto **(VM A)** y Villa Mantero – Bajo **(VM B)**.

Plano de ubicación de los ensayos



Antes de la siembra del cultivo de arroz, cada año se realizaron muestreos de suelo para evaluar variables edáficas y poblaciones de cianobacterias.

***Muestreo inicial*:**
A.- Consistió en la toma de 4 muestras en dos profundidades (0-15 cm y 15 – 30 cm) por lote. Cada muestra estuvo compuesta por 10 sub-muestras. Sobre estas muestras se determinaron: Indicadores de mineralización de N por Incubaciones anaeróbicas de 7 días (PMN-IA); Carbono y Nitrógeno de la biomasa microbiana (CBM) y (NBM); enzimas ureasa (ureasa) y acetato de fluoresceína (FDA); contenido de nitratos (NO_3^-) y amonio (NH_4^+), C orgánico (C org.) y N total (N tot).
B.- Muestreo superficial para determinaciones de cianobacterias
Se realizaron 4 repeticiones por tratamiento. La toma de muestras se realizó sobre los primeros 5 mm de suelo seco (Meeting 1994), y estuvieron compuestas de 10 submuestras (Roger, 1991 citado por Meeting 1994). El muestreo se realizó sobre el área delimitada por un aro de 7.2 cm de diámetro. Las muestras se conservaron en heladera (4ºC) y en condiciones de oscuridad hasta su procesamiento en un lapso no mayor a 4 días.

Ciencia, Docencia y Tecnología Suplemento
Vol. 1 | Nº 1 (2011) | ISSN (en línea) 0327-5566

Una vez implantado el cultivo e inundado el mismo luego del macollaje se realizaron muestreos de seguimiento de variables de cultivo, de N mineral acumulado y de cianobacterias hasta finalizar el ciclo (madurez fisiológica)

Muestreos de seguimiento

A.- Durante el ciclo del cultivo se realizó un seguimiento de N mineral en el suelo mediante determinaciones "*in situ*".

Con este fin se instalaron tubos de PVC enterrados unos 10 cm. una vez que ha sido inundado el cultivo. Cada 21 días se realizaron muestreos de suelo del interior de los tubos y del exterior para determinar N mineral presente y así calcular la mineralización neta "in situ" (Raison et al 1987).

La mineralización neta o inmovilización de N en suelos a campo se calculó a partir de cambios en el contenido de N mineral del suelo aislado dentro de tubos " *in situ"*.

La mineralización neta (o inmovilización) se calculó como la suma de los cambios en NH_4^+ (amonificación neta) y NO_3^- (nitrificación neta).

$$\Delta\ NH_4^+ = NH_4^+ - N_{e(t+1)c} - NH_4^+ - N_{b(t)}$$

$$\Delta\ NO_3^- - N_{e(t+1)c} - NO_3^- - N_{b(t)}$$

Donde:

$NH_4^+ - N_{b(t)}$ y $NO_3^- - N_{b(t)}$ son el contenido de amonio y de nitratos de la masa de suelo no confinado en los tubos al comienzo (tiempo t) del período considerado, y

NH4+ Ne(t+1)c y NO3- Ne(t+1)c son los contenidos de estas formas de N mineral dentro de los tubos (c) al final del período (tiempo t+1).

La mineralización neta durante el período queda determinada por:

$$\Delta\ NH_4^+ - N + \Delta\ NO_3^- - N$$

B.- Muestreos de material vegetal para cuantificar la absorción de N por parte del cultivo en las diferentes etapas del desarrollo. Se tomaron 4 repeticiones de 1 m lineal de cultivo en los mismos momentos que se hace la determinación de N mineral para las determinaciones de mineralización "in situ". Sobre las mismas se determinó peso seco del material (parte aérea) y contenido de N. De este modo se determinaron: biomasa aérea, N absorbido y rendimiento a madurez fisiológica.

C.- Muestreo de suelo y agua para determinaciones de Cianobacterias

Para la evaluación de cianobacterias a través del ciclo del cultivo de arroz, se tomaron muestras de agua y suelo con tres repeticiones por tratamiento.

La toma de muestras de agua y suelo respondió a que las comunidades de microalgas flotan y están sujetas a patrones de distribución que están influenciados por el movimiento del agua, el viento y el espaciamiento individual de las plantas de arroz. Las cianobacterias pueden moverse verticalmente en la columna de agua y además pueden adherirse a porciones sumergidas y emergentes de las raíces de arroz (Roger 1993; citado por Meeting 1994).

Como muestreador del suelo se utilizó un tubo cilíndrico hueco, de extremos abiertos, de aproximadamente 50 cm de largo y sección circular de 25 mm de diámetro exterior. El muestreo de agua se tomó de la porción que queda contenida en el muestreador, la que es retirada con una jeringa (Quesada A, comunicación personal).

Los momentos de muestreo durante el ciclo fueron coincidentes con los estadios de: macollaje, panoja embuchada y madurez fisiológica.

Obtenidas las muestras se llevaron inmediatamente a heladera (4ºC) y en condiciones de oscuridad hasta su procesamiento, al día siguiente del muestreo.

Ciencia, Docencia y Tecnología Suplemento
Vol. 1 | Nº 1 (2011) | ISSN (en línea) 0327-5566

Variables registradas
Se registraron variables de clima, de suelo y de cultivo. Se presentan promedios y rango de valores registrados en las mismas.

Variables de clima: Se llevaron registros de temperatura del agua y del aire. Se calcularon medias de las temperaturas del aire para el ciclo del cultivo en cada campaña y se determinaron las sumas térmicas correspondientes al ciclo del cultivo sobre una base de 10ºC.

Variables	Promedio	Mínimo	Máximo
Temperatura media diaria del aire ºC	22.4	21.4	23.1
Suma térmica del período de cultivo ºC	1958	1878	2017
Temperatura del agua ºC	23.2	16.1	28.9

La sumas térmicas fueron similares (alrededor de 2000ºC) a las informadas por otros grupos de investigación. En particular a las de INIA Tacuarembó Uruguay (2003) en sus Informes de resultados experimentales de arroz, si bien hacen hincapié en las sumas térmicas para los períodos críticos.

Variables de suelo: Los suelos sobre los que realizaron los ensayos fueron Peludertes árgicos y Argiudoles vérticos, ambos con elevados tenores de arcilla en el horizonte superficial y especialmente en los horizontes subsuperficiales. Los ensayos se localizaron en lotes con pendientes suaves, características de la zona donde se encuentran estos suelos y propicias para la implantación del cultivo de arroz.
Sobre muestras superficiales compuestas, obtenidas antes de la siembra del cultivo cada año se determinaron las variables que se presentan en la siguiente tabla con sus valores promedios y extremos:

Variable	Promedio	Mínimo	Máximo
C orgánico *(gr kg^{-1} de ss)*	26.3	22.3	30.7
N total. *(gr kg^{-1} de ss)*	1.88	1.57	2.38
PMN-IA *(kg de N ha^{-1})*	185.6	146.7	258.2
CBM (*µg de C gr^{-1} de ss*)	628.6	338.5	955.1
NBM (*µg de N gr^{-1} de ss*	60.9	32.6	132.8
FDA *(µg de fluoresceína gr^{-1} de suelo seco h^{-1})*	10.9	3.6	20.8
Ureasa. *(µg de NH_4^+ liberado gr^{-1} de ss h^{-1})*	868	559.1	1283.6

El PMN-IA representó entre 5.1 y 6.9 % del N total. En suelos de China, Li y colaboradores (2003) reportaron un rango entre 4 y 9,4% en suelos que presentaban niveles de C orgánico y N total similares a los informados en este estudio. En suelos de Brasil, Rhoden et al (2006) informan potenciales de mineralización determinados en incubaciones anaeróbicas de entre 105 y 208 mg/kg - algo inferiores a los encontrados en este estudio - que representaron entre 3.7 y 15.5% del N total del suelo.
La estrecha relación entre el PMN-IA y el N total, se reflejó en la relación encontrada entre ambas variables.

Aporte del suelo por mineralización (mg kg $^{-1}$) = 854,67 (N total %) - 47,41
R^2 = 0,792

Esta ecuación sugiere la existencia de un "piso" en el contenido de N total del suelo de 0.06% por debajo del cual los aportes por mineralización serían inexistentes. Por otra parte, se produciría un aporte de unos 85 ppm de N cada 0,1% de incremento en el N del suelo.

Ciencia, Docencia y Tecnología Suplemento
Vol. 1 | Nº 1 (2011) | ISSN (en línea) 0327-5566

De Battista y Arias (2005) informan un excelente ajuste entre el amonio producido en incubaciones anaeróbicas de 14 días a 35ºC y el nivel de materia orgánica del suelo en suelos de Entre Ríos. Probablemente esta alta asociación encontrada en ambos casos se deba a la similitud de texturas, condiciones climáticas, etc. en los suelos analizados ya que, si bien el N total del suelo y la materia orgánica han sido considerados posibles índices del N que se liberará anualmente en suelos arroceros, los estudios de Olk *et al* (2000) no encontraron relación consistente entre N total y la cantidad de N que absorbe un cultivo sin fertilización.
Durante el ciclo de desarrollo del cultivo se realizaron muestreos periódicos para determinar el N mineralizado en cada intervalo siguiendo la metodología propuesta por Raison *et al* 1987 para determinar N mineral presente y así calcular la mineralización neta *in situ.* El valor medio del N mineralizado a campo fue de 193.1 kg de N ha $^{-1}$, con un mínimo de 139.1 y un máximo de 244.8. Estos valores son algo superiores a los informados por Angus *et al* (1994) de 115 Kg. de N /ha utilizando la misma técnica en suelos Alfisoles de Yanco (Australia).
El N acumulado a campo en estos ensayos representó entre 4.3 y 8.4% del N total.
Las tasas de mineralización del N del suelo mostraron relación con las temperaturas del aire (y éstas con las del agua de riego) y fueron muy variables, alcanzaron valores de 4 kg N/ha día, pero en promedio resultaron de 1,87 Kg. de N/ha día. Valores algo superiores a los informados por Angus et al (1994) de 1,35 kg N/ha día.

Variables de cultivo. Los cultivares utilizados en los diferentes ensayos fueron RP2, Supremo 13 y Puitá INTA; los cultivos antecesores fueron pastura, arroz, soja de primera y soja sobre trigo. Las fechas de siembra fueron desde el 27 de setiembre hasta el 25 de octubre. La duración del ciclo en los ensayos fue entre 143 a 165 días, dependiendo de la fecha de siembra y el cultivar utilizado
Durante el ciclo de desarrollo del cultivo se realizaron muestreos periódicos para determinar biomasa del cultivo, N absorbido.
Se realizaron determinaciones de Nº de plantas, Nº de tallos y de panojas por unidad de superficie.
Se determinó rendimiento al momento de madurez fisiológica mediante cosecha manual y separación en gabinete.

Variables	Promedio	Mínimo	Máximo
Biomasa total kg MS ha $^{-1}$	**15065.5**	**11658**	**18106**
Rendimiento kg ha $^{-1}$	**6272.8**	**4939**	**7242**
N absorbido kg ha $^{-1}$	**119.8**	**87**	**148**

Beecher *et al* (1994) encontraron valores de biomasa entre 12 y 22 tn/ha en suelos australianos, los valores mayores con fertilización nitrogenada.
Angus et al (1994) informaron valores medios de N absorbido por el cultivo de 111 kg/ha al momento de madurez fisiológica; en tanto que Kira y Kronzucker (2000) encontraron valores de hasta 270 Kg. de N en biomasa aérea.
El N absorbido por el cultivo en promedio fue de 70,6% del N mineralizado acumulado pero presentó variaciones entre 48 y 100 % del N determinado a campo.
El índice de cosecha fue en promedio de 38,6. El requerimiento de N fue en promedio de 21.6 Kg. de N por Tn de arroz. De Battista y Arias (2005) informan requerimientos diferentes para distintos cultivares; El Paso requiere entre 15 y 17 kg N/Tn de grano y para Bluebelle y Don Juan INTA entre 18 y 20 kg de N/Tn de grano. En tanto que García, citado por De Battista y Arias (2005) informa un requerimiento promedio de 22.2 kg de N/Tn de grano.

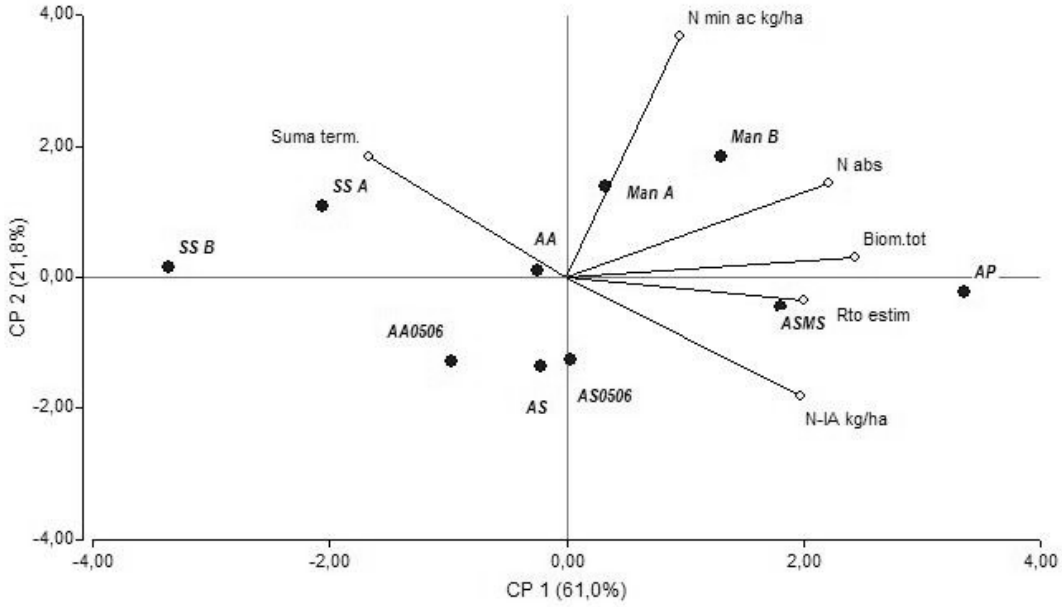
Análisis estadístico
Sobre estos datos, considerados en promedio, se realizaron algunos análisis estadísticos. Se utilizó el paquete estadístico InfoStat versión 2007.
El análisis multivariante es el estudio de varias variables o características medidas en los elementos de una población y que permite resumir datos mediante un conjunto de nuevas variables, constituidas como transformaciones de las variables originales, con mínima pérdida de

Ciencia, Docencia y Tecnología Suplemento
Vol. 1 | Nº 1 (2011) | ISSN (en línea) 0327-5566

información. Por otra parte a través de estos análisis se pueden encontrar grupos entre los datos y relacionar conjuntos de variables.
La identificación de los lotes utilizada responde a la secuencia de cultivos – localización y campaña agrícola en al que registraron los datos, se trabajaron los datos de calidad de suelos asociándolos a variables de producción.
En todos los casos los muestreos se realizaron en áreas homogéneas. Sobre las muestras se cuantificaron las siguientes variables:

- N mineralizado en incubaciones anaeróbicas de 7 días (PNM-AI)
- Rendimiento del cultivo (Rto estim)
- Biomasa aérea del cultivo a madurez fisiológica (Biom tot)
- N absorbido por el cultivo a madurez fisiológica (Nabs)
- N mineralizado acumulado (N min ac)

Se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP). Los resultados se observan en el siguiente gráfico.



Correlaciones con las variables originales		
Variables	CP 1	CP 2
N min ac kg/ha	0,39	0,89
Suma term.	-0,67	0,45
Biom.tot	**0,98**	0,07

Ciencia, Docencia y Tecnología Suplemento
Vol. 1 | Nº 1 (2011) | ISSN (en línea) 0327-5566

N abs	**0,89**	0,34
Rto estim	**0,81**	-0,08
N-IA kg/ha	**0,8**	-0,44
Correlación cofenética= 0,953		

La correlación cofenética fue de 0.95, lo que indica un alto valor de correlación entre las distancias euclídeas en el espacio reducido y las mismas distancias en el espacio original de dimensión, dada por el número de variables originales.
La componente principal (CP)1 explica el 61 % de la variación y la CP2, el 21,8%.
Se destaca el alto grado de asociación de la CP1 con las variables de rendimiento (Biomasa total del cultivo, N absorbido y Rendimiento estimado) y con la capacidad de aporte de N por mineralización del suelo medida por incubaciones anaeróbicas (N-IA kg/ha).
Se observa, a partir del gráfico, que las variables *Biomasa total del cultivo*, *N absorbido* y *Rendimiento estimado* tomaron altos valores en los lotes que presentaron las mejores condiciones biológicas de calidad de suelo (rotación de arroz con pastura –AP- seguido de la rotación de arroz con soja y maíz –ASMS), mientras que los lotes que tuvieron mayor frecuencia de cultivo de arroz se ubicaron alejados de las variables de producción.
Para relacionar las variables edáficas entre sí y con la producción del cultivo, se realizó un análisis de correlación de Pearson. Este análisis dio como resultados destacables las relaciones entre PMN-IA con N absorbido por el cultivo r = 0.73 (*) ; PMN-IA con la biomasa aérea total del cultivo r = 0.93 (**); PMN-IA con rendimiento r = 0.82 (**); PMN-IA con CBM r = 0.47; PMN-IA con NBM r = 0.52; PMN-IA con enzima ureasa r = 0.57 ; PMN-IA con C. org r = 0.86 (**) y PMN-IA con N. tot r = 0.89 (**), en tanto que el N acumulado a campo solo presentó relación con enzima ureasa r = 0.82 (**).

Tasa de mineralización de N determinado a campo
La metodología de estudio de la mineralización de N a campo (Raison *et al* 1987) resultó especialmente interesante en los estudios de caso para un año en particular, como se vuelca en la siguiente gráfica.

Del análisis de los datos obtenidos por González P. en su Trabajo Final de Graduación para obtener el título de Ingeniero Agrónomo, realizado en el marco del PID, se desprende la fuerte relación entre las tasas de mineralización y las temperaturas medias en cada período analizado, en tanto que las tasas de absorción siguen, como resulta lógico, la curva de demanda del cultivo de acuerdo a su estadio fenológico. Similares resultados encontraron Beecher *et al* (1994), quienes resaltan que la tasa de mineralización no alcanza a cubrir la demanda del cultivo una vez iniciada la formación de las panículas en el cultivo.

Ciencia, Docencia y Tecnología Suplemento
Vol. 1 | Nº 1 (2011) | ISSN (en línea) 0327-5566

Aquí cobra importancia la inclusión en el análisis del papel que representan los horizontes subsuperficiales como "almacén" del N mineralizado y no consumido por el cultivo en forma inmediata, ya que solo así se explica la mayor absorción en períodos posteriores. Zhu (1989) resalta la contribución de los horizontes subsuperficiales en el aporte de N.

De todos modos, Beecher *et al* (1994) sostienen que, en suelos arroceros, el 70 % de la mineralización se produce en los 10 cm. superficiales, donde también se localizan más del 93% de las raíces, información que revaloriza la metodología de estudios utilizada en este Proyecto. En este caso en particular, el cultivo absorbió el 76% del N mineralizado acumulado en el ciclo. Las tasas de mineralización, para este caso, no superaron los 3kg de N /ha día, valores similares a los encontrados por otros autores, si bien se han informado valores entre 5 y 10 kg N /ha día en situaciones de altos rendimientos (Kirk, Kronzucker, 2000).

García A., en su Trabajo Final de Graduación realizado en el marco del PID, comparó las tasas de mineralización de lotes con distintos cultivos antecesores con las temperaturas medias del aire (línea superior) y temperatura media del agua (línea inferior), en el gráfico siguiente, donde se observa que las tasas de mineralización alcanzaron valores cercanos a 5 kg de N/ha día y se puede visualizar el efecto de las temperaturas sobre dichas tasas, confirmando la fuerte dependencia de las mismas.

Evolución de la temperatura (líneas) y de la tasa de mineralización (barras) durante el ciclo del cultivo de arroz en lotes con diferente cultivo antecesor.

Estudio de la comunidad de Cianobacterias en el cultivo

Se ajustó la metodología propuesta por Venkataraman, (1981) ; Meeting, (1994) para la enumeración de la población total de cianobacterias en muestras de suelo y agua. Se empleó la

Ciencia, Docencia y Tecnología Suplemento
Vol. 1 | Nº 1 (2011) | ISSN (en línea) 0327-5566

técnica de plaqueo de diluciones seriales en medio sólido y la técnica del número mas probable (NMP) en medio líquido.
En el primer caso se empleó el medio de cultivo sólido BG-110 que no contiene N (Allen, 1968, citado por Meeting 1994), que favorece el crecimiento de especies fijadoras de N_2. Este medio de cultivo fue empleado en los trabajos de Quesada y Fernández Valiente (1996) y Irisarri et al. (2001). Se sembraron, por la técnica de placa extendida en cajas de petri conteniendo 15 ml de medio, alícuotas de 0,1 ml de las diluciones 10^{-2} hasta10^{-7} (Oran, 1995).
Para el recuento por la técnica del NMP empleando medio líquido se utilizó el medio Fogg´s (Venkataraman, 1980).
Las condiciones estándares de crecimiento de las placas y los tubos sembradas que se ajustaron fueron el control de la temperatura, la provisión de luz y el fotoperíodo en la cámara de cultivo destinada a tal fin (Meeting 1994):

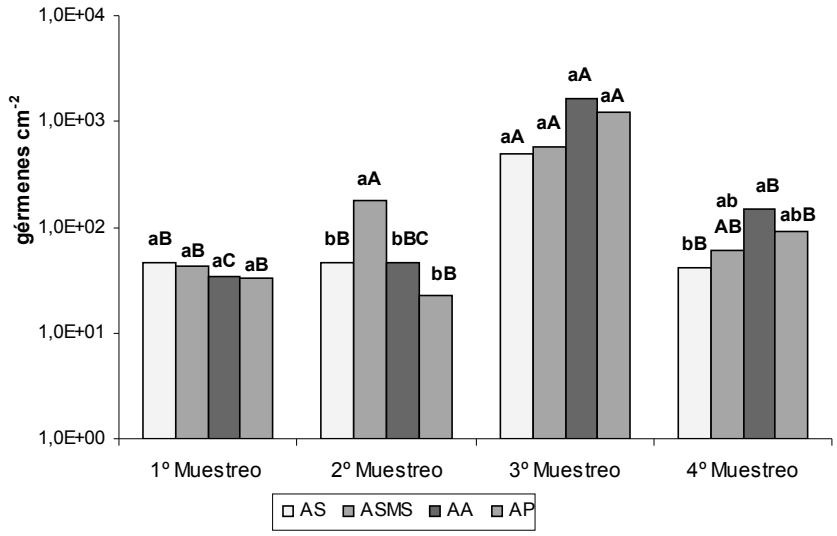
- Temperatura del aire de la cámara de cultivo de entre 20 y 25 ºC
- Provisión de luz de alrededor de 3700 lux de intensidad
- Fotoperíodo 16 h. luz/8 hs oscuridad

El período de incubación fue de 3 semanas. Quesada y Fernández Valiente (1996) indican que bajo estas condiciones no se requiere tiempo adicional para detectar mayor número de colonias.
Los resultados fueron expresados en unidades formadoras de colonias por unidad de superficie (UFC/ cm^2) de superficie de suelo cuando se trabajó con medios sólidos, o gérmenes por cm^2 por la técnica del NMP.
En los primeros ensayos realizados sobre suelos de arroceras se encontró que la carga de cianobacterias fue de $1{,}1.10^4$ gérmenes por cm^2. A partir de estos primeros ensayos, se optó por emplear la técnica del NMP para la evaluación de cianobacterias totales.
Obtenidas las muestras se llevaron inmediatamente a heladera (4ºC) y en condiciones de oscuridad hasta su procesamiento, al día siguiente del muestreo.
Se trabajó con cuatro de las rotaciones que incluyen el cultivo de arroz empleadas en la Provincia de Entre Ríos. El objetivo fue evaluar la comunidad de cianobacterias durante el ciclo de cultivo para las rotaciones (AA), (AS), (ASMS) y (AP). Se analizó el efecto que tuvo la historia cultural del lote sobre la comunidad de cianobacterias.
Los momentos de muestreo durante el ciclo fueron: macollaje, panoja embuchada y madurez fisiológica.

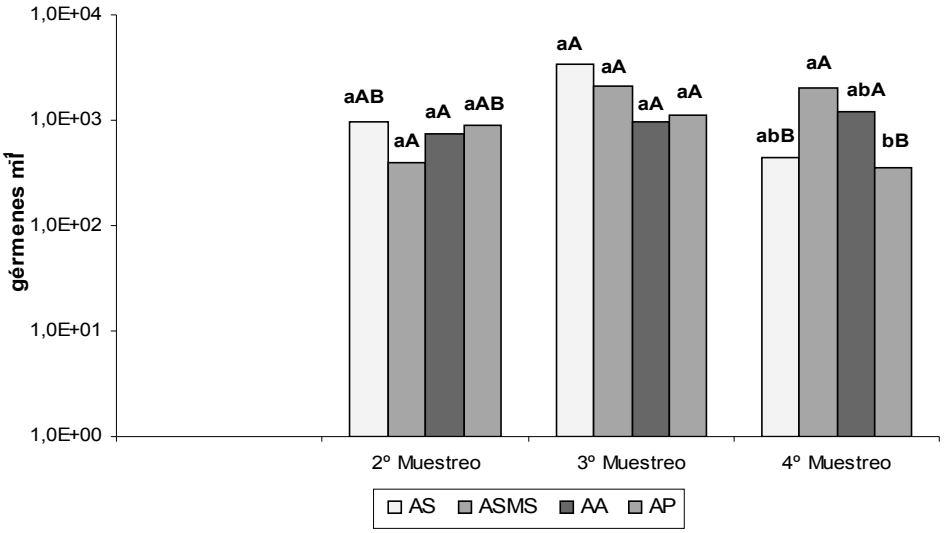
Los resultados encontrados permitieron establecer que se recontaron cianobacterias en todas las situaciones evaluadas y en todos los muestreos realizados. Los recuentos iniciales de este grupo de microorganismos, correspondientes al primer muestreo cuando el suelo no estaba inundado, fueron del mismo orden de magnitud en todas las rotaciones. Esto puede deberse a la presencia de mecanismos de sobrevivencia de estos microorganismos. Whitton (2000) cita numerosos estudios en los que se ha demostrado que las cianobacterias pueden sobrevivir prolongados períodos de sequía.
La evolución de este grupo de microorganismos a lo largo del ciclo del cultivo de arroz en suelo y en agua obtenidos por la técnica del NMP se muestra en los siguientes gráficos.

Evolución de cianobacterias totales en suelo en las cuatro rotaciones0

Ciencia, Docencia y Tecnología Suplemento
Vol. 1 | Nº 1 (2011) | ISSN (en línea) 0327-5566



Evolución de cianobacterias totales en agua en las cuatro rotaciones



Nota: Letras minúsculas corresponden a diferencias entre rotaciones para cada momento de muestreo (p≤ 0.05
Letras mayúsculas corresponden a diferencias entre momentos de muestreo para cada rotación p≤ 0.05

Para establecer los géneros de cianobacterias presentes en las muestras de suelo y agua y su abundancia relativa, estas fueron conservadas en solución de formaldehído al 5% en peso o volumen (Prósperi, comunicación personal), las que luego fueron evaluadas por la metodología de observación microscópica en cámara de Neubaver. Esta técnica permitió obtener la abundancia total de la comunidad de cianobacterias presentes en las muestras de suelo y agua. Los recuentos se realizaron sobre las muestras de suelo y agua que correspondieron a los estadios de macollaje, panoja embuchada y madurez fisiológica del arroz. Los resultados se expresaron en gérmenes por cm^2 y en gérmenes por ml. Se realizaron dos repeticiones por muestra y la identificación de los géneros presentes se realizó por sus características morfológicas utilizando las descripciones de

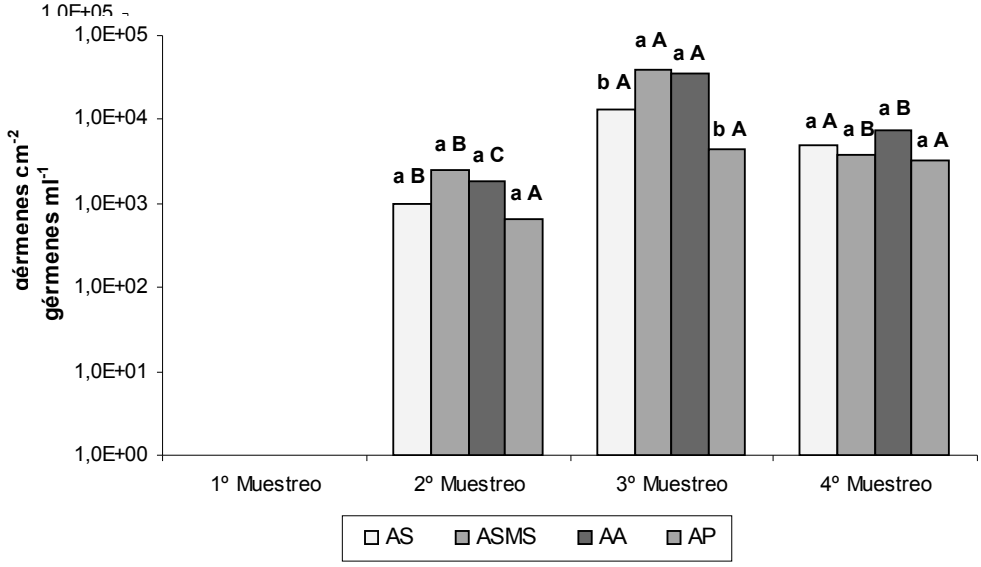
Ciencia, Docencia y Tecnología Suplemento
Vol. 1 | Nº 1 (2011) | ISSN (en línea) 0327-5566

Desikachary (1969) citadas por Prescott (1962), Venkataraman (1981), Prósperi *et al.* (1996) y Prósperi (2000).

El recuento y la descripción de los géneros se realizaron con microscopio trinocular marca Olympus modelo CX31, con cámara digital C-5060 con la que se tomó las fotomicrografías de los géneros observados.

Se presentan a continuación los resultados de cianobacterias totales obtenidos por la técnica de recuento por microscopía directa.

Evolución de cianobacterias totales en suelo en las cuatro rotaciones por microscopía directa



Nota: Letras minúsculas corresponden a diferencias entre rotaciones para cada momento de muestreo (p≤ 0.05 Letras mayúsculas corresponden a diferencias entre momentos de muestreo para cada rotación p≤ 0.05

Los recuentos obtenidos por la técnica de microscopía directa variaron durante todo el ciclo del cultivo entre $1{,}0.10^3$ y $1{,}4.10^4$ gérmenes ml^{-1} en la rotación AS; entre $2{,}5.10^3$ y $3{,}9.10^4$ gérmenes ml^{-1} en la rotación ASMS; entre $1{,}8.10^3$ y $3{,}6.10^4$ gérmenes ml^{-1} en la rotación AA y entre $6{,}7.10^2$ y $3{,}3.10^3$ gérmenes ml^{-1} en la rotación AP. La cantidad de cianobacterias en suelo varió entre $7{,}2.10^3$ y $1{,}5.10^4$ gérmenes cm^{-2} en la rotación AS, entre $5{,}9.10^3$ y $1{,}5.10^4$ gérmenes cm^{-2}en la rotación ASMS, entre $6{,}4.10^3$ y $1{,}3.10^4$ gérmenes cm^{-2} en la rotación AA y entre $5{,}3.10^3$ y $2{,}1.10^4$ gérmenes cm^{-2} en la rotación AP. En general, estos recuentos fueron mayores a los obtenidos por la técnica de NMP en los mismos momentos del ciclo del cultivo evaluados. La diferencia en la cantidad de cianobacterias encontrada por la utilización de las técnicas empleadas en este trabajo para evaluar la comunidad de cianofíceas podría ser atribuida a que al emplear el medio de cultivo selectivo Fogg´s se favoreció únicamente el desarrollo de cianobacterias fijadoras de N.

Los recuentos obtenidos en este estudio fueron menores a los alcanzados por Quesada y Fernández Valiente (1996) en arrozales de España, cuando se los compara con la situación arroz–arroz estudiada. Estos investigadores hallaron valores de 1 a 3,5 x 10^3 ufc ml^{-1} en muestras de agua, y en muestras de suelo valores que oscilaron entre 4 x 10^3 a 8,5 x 10^5 ufc $cm^{-2.}$ En este

Ciencia, Docencia y Tecnología Suplemento
Vol. 1 | Nº 1 (2011) | ISSN (en línea) 0327-5566

estudio se determinaron abundancias que fluctuaron entre 7 x 10^2 a 1,6 x 10^4 gérmenes ml^{-1} en muestras de agua, y cantidades entre 3 x 10^1 a 1,7 x 10^3 gérmenes cm^{-2} en muestras de suelo. Irisarri *et al* (2001) al realizaron recuentos de cianobacterias en el cultivo de arroz en campos de Uruguay durante tres años de evaluación atribuyeron la baja densidad de cianobacterias a valores bajos de pH de suelo. En el estudio del grupo uruguayo el suelo presentó valores de pH de 5,3. En el presente trabajo los pH del suelo fueron más altos, entre 5,8 y 6,3.

Los coeficientes de correlación entre las técnicas de recuentos utilizadas para evaluar la población de cianobacterias fueron muy bajos y variables en cada uno de los muestreos analizados.

En la evaluación por microscopía directa de las muestras de suelo y agua fueron reconocidos un total de 13 géneros en todas las muestras analizadas.

Para el análisis de los géneros hallados en el presente trabajo, estos fueron agrupados de acuerdo a la descripción propuesta por Venkataraman (1981). La primera agrupación reúne a especies "filamentosas no heterocísticas". En este grupo de cianobacterias se identificaron los géneros *Lyngbya*, *Spirulina*, *Oscillatoria* y *Plectonema.* El segundo grupo de cianobacterias "filamentosas heterocísticas" hallado estuvo compuesto por los géneros *Anabaena*, *Nostoc, Aulosira, Calothrix* y *Gloeotrichia*. En las muestras analizadas se observó especies pertenecientes a los géneros *Aphanocapsa*, *Chroococcus*, *Microcystis* y *Gloeocapsa*. Estos géneros son agrupados como "unicelulares".

Del análisis de los grupos de cianobacterias se halló que la mayor proporción del grupo de cianobacterias "unicelulares" se encontró en suelo en todas las rotaciones. Se observó que la rotación AP fue la que presentó en general la mayor proporción de cianobacterias "unicelulares" respecto del resto de las rotaciones, tanto en suelo como en agua durante todo el ciclo de cultivo.

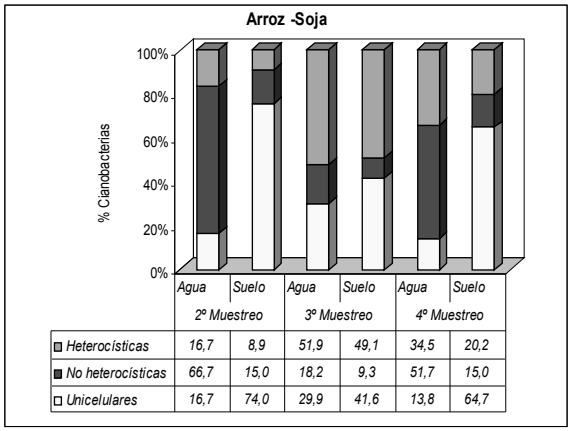
Las rotaciones AS y AA presentaron mayor proporción de cianobacterias filamentosas ("heterocísticas" y "no heterocísticas") respecto del grupo de unicelulares, tanto en suelo como en agua, comparadas con las rotaciones ASMS y AP. En general esta diferencia se mantuvo a lo largo del ciclo, aunque fue menos marcada que en el segundo muestreo. Probablemente exista un efecto rotación sobre la proporción de cianobacterias filamentosas al inicio del cultivo, ya que las rotaciones AS y AA son las tuvieron mayor número de años de arroz en un mismo lote.

El análisis de las proporciones de cianobacterias "unicelulares", "heterocísticas" y "no heterocísticas" mostró que a lo largo del ciclo de cultivo las rotaciones AS y ASMS presentaron una distribución de los grupos de cianobacterias similar entre sí en suelo y agua.

Los siguientes gráficos muestran la evolución porcentual de las cianobacterias cuando son agrupadas por sus características morfológicas.

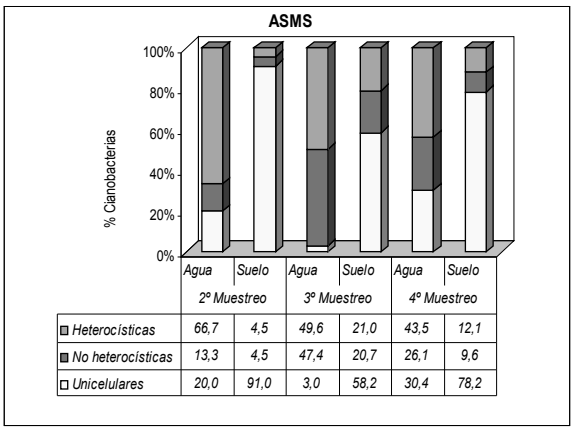
Evolución porcentual de las cianobacterias cuando son agrupadas por sus características morfológicas

AS



	Agua	Suelo	Agua	Suelo	Agua	Suelo
	2º Muestreo		3º Muestreo		4º Muestreo	
Heterocísticas	16,7	8,9	51,9	49,1	34,5	20,2
No heterocísticas	66,7	15,0	18,2	9,3	51,7	15,0
Unicelulares	16,7	74,0	29,9	41,6	13,8	64,7

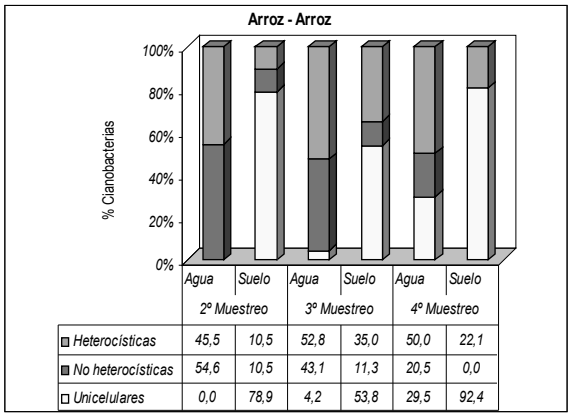
ASMS



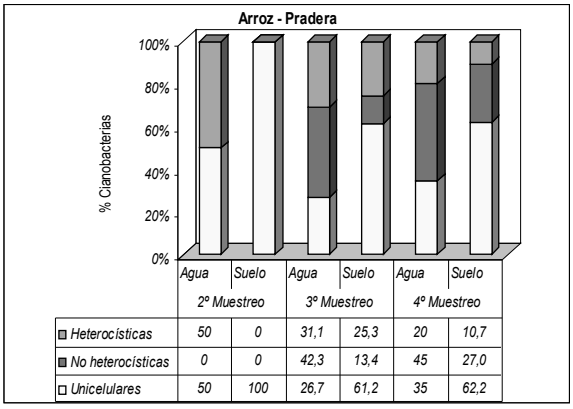
	Agua	Suelo	Agua	Suelo	Agua	Suelo
	2º Muestreo		3º Muestreo		4º Muestreo	
Heterocísticas	66,7	4,5	49,6	21,0	43,5	12,1
No heterocísticas	13,3	4,5	47,4	20,7	26,1	9,6
Unicelulares	20,0	91,0	3,0	58,2	30,4	78,2

Ciencia, Docencia y Tecnología Suplemento
Vol. 1 | Nº 1 (2011) | ISSN (en línea) 0327-5566

AA



AP



Sobre las muestras de suelo y agua se aplicó el índice de biodiversidad y se determinó la riqueza. La siguiente tabla muestra los datos de riqueza de géneros y los índices de biodiversidad de Simpson obtenidos en muestras de suelo y agua en las diferentes etapas del cultivo de arroz de las rotaciones evaluadas.

Índice de Biodiversidad de Simpson y Riqueza de géneros hallados en las situaciones evaluadas y en distintos muestreos

	2º Muestreo		3º Muestreo		4º Muestreo	
AS						
	Agua	Suelo	Agua	Suelo	Agua	Suelo
Riqueza	3	7	6	5	7	5
Índice de Simpson	0,50	0,25	0,27	0,25	0,23	0,26
ASMS						
Riqueza	7	5	7	5	4	5
Índice de Simpson	0,27	0,44	0,31	0,25	0,27	0,41
AA						
Riqueza	4	6	9	6	7	6
Índice de Simpson	0,27	0,26	0,28	0,31	0,24	0,34
AP						
Riqueza	3	3	6	5	4	6
Índice de Simpson	0,31	0,59	0,22	0,27	0,37	0,31

En general, los valores de biodiversidad de Simpson encontrados en el presente trabajo fueron bajos. La desigual distribución de la proporción de la abundancia de cada género identificado, indica que en cada muestreo el predominio está concentrado en un solo género en relación con la comunidad de cianobacterias. La baja diversidad es característica de ecosistemas modificados por la acción del hombre y favorecen el desarrollo de comunidades sujetas a fluctuaciones de tipo estacionales (Odum, 1972).

Cuando se analiza la riqueza de la comunidad de cianobacterias, expresada como el número de géneros distintos registrados en cada etapa fenológica del cultivo, se encontró que esta fue variable a lo largo del ciclo del arroz en todas las rotaciones.

Ciencia, Docencia y Tecnología Suplemento
Vol. 1 | Nº 1 (2011) | ISSN (en línea) 0327-5566

Síntesis

En síntesis, pueden enumerarse los resultados obtenidos a través de las investigaciones en:

-Se realizaron estudios orientados a esclarecer la dinámica de los procesos mineralización de N mediante la aplicación de la metodología propuesta por Raison *et al* 1987 y de la absorción del N inorgánico por el cultivo de arroz mediante muestreos periódicos del cultivo.

-Se estableció el efecto de la historia cultural del lote sobre las variables relacionadas con la capacidad de aporte de N del suelo a través de la mineralización de N orgánico y sobre la dinámica de la comunidad de cianobacterias.

-Se estudió la relación entre las variables climáticas, sumas térmicas y temperaturas medias diarias, variables edáficas y las variables de cultivo.

-Mediante análisis estadísticos se elaboraron modelos de asociación entre las variables N absorbido por el cultivo; biomasa acumulada y rendimiento con PMN-IA obtenido con incubaciones anaeróbicas de 7 días; estos modelos permiten estimar rendimiento del cultivo a partir de la capacidad de aporte de N del suelo; y ajustar la dosis de requerimiento de fertilización nitrogenada para rendimientos superiores.

Ciencia, Docencia y Tecnología Suplemento
Vol. 1 | Nº 1 (2011) | ISSN (en línea) 0327-5566

Bibliografía

Angus J. F., Ohnishi M., Horie T. and Williams R. L.(1994). **A preliminary study to predict net nitrogen mineralization in a flooded rice soil using anaerobic incubation**. Australian Journal of. Experimental Agriculture, 34: 995-9.

Beecher, H.; Thompson, J.; Bacon, P. and Dunn, B. **Soil nitrogen supply to rice: crop sequence effcts**. Australian Journal of Experimental Agriculture, 34: 987 – 94, 1994.

Beecher, H.; Thompson, J.; Bacon, P. and Heenan, D. **Effect of cropping sequences on soil nitrogen levels, rice growth and grain yields.** Australian Journal of Experimental Agriculture, 34: 977 – 86, 1994

De Battista, J y Arias N. 2005. **Arroz**. En Fertilidad de suelos y Fertilización de cultivos. Eds Echeverria,H y García, F. Ediciones INTA:399-406

INIA Tacuarembó (2003) **Arroz**. **Resultados experimentales 2002-2003**. www.**inia**.org.uy

InfoStat. (2007). **InfoStat, Manual del Usuario**. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Segunda Edición, Editorial Brujas Argentina

Irisarri P; Gonnet S & Monza J. **Cyanobacteria in Uruguayan rice fields: diversity, nitrogen fixing ability and tolerance to herbicides an combined nitrogen.** Journal of Biotechnology 91 (2001) 95-103.

Kirk, G. y Kronzucker, H. 2000. **Nitrogen uptake by rice roots**. In: Carbon and Nitrogen dynamics in flooded soils. Kirk, G and Olk, D Eds. IRRI.:147- 161.

Li, H.; Han, Y. and Cai, Z. 2003. **Nitrogen mineralization in paddy soils of the Taihu Region of China under anaerobic conditions: dynamics and model fitting.** Geoderma Vol 115(3-4) : 161-175.

Meeting, B F. 1994. **Algae and Cyanobacteria**. Pp. 427 - 457. En: SSSA (eds.) Methods of Soil Analysis, Part 2 Microbiological and Biochemical Properties. Book Series Nº 5, USA.

Odum, E. (1972) **Ecología.** Nueva Editorial Interamericana. México. 639 p

Oliveira Camargo F.A.; Gianello, C. ; Tedesco M.J.; Riboldi J; Meurer E.J. and Bissani C.A. **(**2002) **Empirical models to predict soil nitrogen mineralization.** Ciência Rural, Santa Maria, v.32, n.3, p.393-399.

Olk, D., van Kessel, C. and Bronson, K. 2000 **Managing soil organic matter in rice and nonrice soils: agronomic questions.** In: Carbon and Nitrogen dynamics in flooded soils. Kirk, G and Olk, D Eds. IRRI.:27- 47.

Oran, S. 1995 **Isolation and counting of cianobacteria.** En Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Alef, K. and Nannipieri, P. (eds) Academic Press :181 – 185.

Prescott, G. W. 1962. **Algae of the Western Great Lakes area**. Brow Company Publishers. USA. 977 p.

Prósperi, C; S Pons & E Maggi. (1996). **Ecological aspects of cyanobacteria from rice fields of Corrientes (Argentina).** Chapter 15. Pp.141–146 in: M Rahman (ed.) Biological nitrogen fixation associated whit rice production. Kluwer Academic Publishers. Great Britain.

Prósperi C. (2000). **Guía Interactiva de Cianofíceas de Córdoba**. Fac. CEFyN. UNC (en diskette)

Quesada, A & E Fernández-Valiente. (1996)**. Relationship between abundance of N2-fixing cyanobacteria and environmental features of Spanish rice fields**. Microb Ecol. (32): 59-71.

Raison R. J., Connel M. J. and Khanna P. K.(1987). **Methodology for studying fluxes of soil mineral-N in situ**. Soil Biol. Biochem. 19 (5): 521-530.

Rhoden, A. C.; Souza da Silva, L; Oliveira Camargo, A.; Britzke, D and Benedetti,E. (2006) **Mineralizaçao anaeróbia do nitrogênio em solos de várzea do Río Grande do Sul**. Ciencia Rural Santa María v 36 n 6 :1780-1787.

Venkataraman G. (1981). **Blue-green algae for rice production.** FAO Roma. Soils Bulletin Nº 46. 102 p.

Whitton, B. (2000). **Soils and Rice Fields**. Chapter 8. Pp. 233-255 in: Whitton & Potts (eds.). The Ecology of Cyanobacteria. Kluwer Academic Publisher. Netherlands.

Zhu Zhaoliang. 1989. **Dynamics of soil nitrogen and its management**. In: Progress in irrigated rice research. IRRI. :151-164.